3M™ Petrifilm™

Test pour la numération des coliformes

DESCRIPTION

Les tests 3M Petrifilm pour la numération des Coliformes (CC) contiennent un milieu sélectif dérivé du VRB (composé de sels biliaires, de cristal violet et de rouge neutre), un agent gélifiant soluble dans l'eau froide et un indicateur au tetrazolium facilitant la lecture. Le test Petrifilm CC est utilisé pour le dénombrement de bactéries coliformes dans les aliments et les produits laitiers. Les tests Petrifilm CC sont fabriqués dans un site certifié ISO (International Standards Organization) 9001.

Le test Petrifilm CC convient à la fois pour le dénombrement des coliformes totaux (pouvant se développer entre 30°C et 37°C) et des coliformes thermotolérants (pouvant se développer entre 41°C et 45°C).

L'AOAC INTERNATIONAL et la FDA (Food and Drug Administration) / BAM (Bacteriological Analytical Manual) définissent les coliformes comme des bâtonnets Gram négatif produisant de l'acide et du gaz par fermentation métabolique du lactose. Les colonies de coliformes se développant sur test Petrifilm CC produisent de l'acide qui assombrit la couleur du gel. La présence d'une ou plusieurs bulles de gaz autour d'une colonie indique la présence de coliformes confirmés.

L'ISO définit les coliformes par leur aptitude à se multiplier dans des milieux sélectifs selon des méthodes spécifiques. La méthode ISO 4832, détermination du nombre de coliformes par comptage des colonies, définit les coliformes par la taille de la colonie et la production d'acide sur milieu VRBL (Violet Red Bile Lactose). Sur les tests Petrifilm CC, ces coliformes forment des colonies caractéristiques rouges avec ou sans bulles de gaz autour de la colonie. La méthode ISO 4831 décrit une numération des coliformes par la technique du Nombre le Plus Probable (NPP) et définit les coliformes par leur capacité à se développer et à produire du gaz par fermentation du lactose dans un bouillon sélectif. Sur test Petrifilm CC, ces coliformes forment des colonies caractéristiques rouges avec une ou plusieurs bulles de gaz autour de la colonie. L'AFNOR a validé l'emploi des tests Petrifilm CC par comparaison aux méthodes ISO 4831 et ISO 4832 pour le dénombrement des coliformes totaux. L'AFNOR a également validé l'emploi des tests Petrifilm CC pour le dénombrement des coliformes thermotolérants par comparaison à la norme NF V08-060.

MISES EN GARDE

3M n'a pas documenté l'utilisation des tests Petrifilm CC dans les secteurs autres que l'industrie alimentaire et les produits laitiers. 3M n'a, par exemple, pas documenté son utilisation pour l'analyse de l'eau, des produits pharmaceutiques ou des cosmétiques.

Les tests Petrifilm CC n'ont pas été évalués sur tous les aliments, tous les procédés agro-alimentaires, et tous les protocoles d'analyse possibles, ni sur toutes les souches de bactéries coliformes et d'autres bactéries non coliformes.

La validation de la méthode par des organisations privées ou publiques (AOAC INTERNATIONAL ou AFNOR, par exemple) ne garantit pas la performance des tests Petrifilm CC sur un aliment, un produit laitier, ou un procédé particulier.

Deux milieux de culture ne recouvreront jamais les mêmes souches et ne dénombreront jamais une souche particulière de manière strictement identique. En outre, des facteurs extérieurs tels que les méthodes de prélèvement, les protocoles d'analyse, le temps de préparation et la manipulation (par exemple, la variabilité de la température par rapport à la consigne, la tolérance par rapport à cette consigne, ainsi que les performances du matériel) peuvent avoir une incidence sur le recouvrement et le dénombrement. L'échantillon d'aliment lui-même peut avoir une influence sur les résultats (par exemple, les aliments à forte teneur en sucre, risquent d'augmenter le potentiel de croissance d'*Enterobacteriaceae* non coliformes productrices de gaz).

Ne pas utiliser les tests Petrifilm CC pour faire des diagnostics sur l'homme ou l'animal.

Comme pour tout milieu de culture, les résultats des tests Petrifilm CC ne garantissent pas la qualité des produits ou procédés évalués.
Pour obtenir des informations sur l'évaluation de la performance de ce produit, contacter un représentant officiel des produits de microbiologie 3M.

Date	Version
juin 2003	2

*Conforme à la notice contenue dans les emballages réf : 38-9017-7298-8

RESPONSABILITE DE L'UTILISATEUR

Il incombe à l'utilisateur, quand il sélectionne une méthode d'analyse, d'évaluer un nombre suffisant d'échantillons d'aliments variés présentant des contaminations microbiennes diverses pour s'assurer que la méthode correspond à ses critères.

Il incombe également à l'utilisateur de déterminer si une méthode d'analyse et ses résultats répondent aux exigences de ses clients ou fournisseurs. L'utilisateur doit former son personnel de manière appropriée aux techniques d'analyse : par exemple, le Guide des Bonnes Pratiques de Laboratoires (U.S. Food and Drug Administration, Title 21, Part 58 of the Code of Federal Regulations) ou la norme ISO 17025.

GARANTIE LIMITEE

SAUF INTERDICTION CONTRAIRE PAR LA LOI, 3M RENONCE À TOUTE AUTRE GARANTIE EXPLICITE OU IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, À TOUTE GARANTIE DE QUALITÉ COMMERCIALE OU D'ADAPTATION À UNE UTILISATION PARTICULIÈRE.
Si un test 3M™ Petrifilm™ s'avère défectueux, 3M ou son distributeur agréé s'engage à remplacer ou, selon son choix, rembourser le prix d'achat du produit.
Il s'agit de vos recours exclusifs.
Vous devez notifier 3M dans les plus brefs délais de toute non-conformité suspectée d'un produit, avant de le renvoyer à 3M. Veuillez appeler le Service clientèle (1-800-328-1671 aux États-Unis) ou votre représentant 3M en produits de microbiologie pour obtenir une autorisation de renvoi.

LIMITATION DE RESPONSABILITE DE 3M

SAUF INTERDICTION CONTRAIRE PAR LA LOI, 3M NE POURRA ÊTRE TENU RESPONSABLE DE TOUTE PERTE OU DOMMAGE DIRECT, INDIRECT, PARTICULIER OU ACCIDENTEL, Y COMPRIS ET SANS S'Y LIMITER, DE LA PERTE DE BÉNÉFICES. Sauf interdiction par la loi, la responsabilité de 3M, quel que soit le principe juridique invoqué, ne pourra en aucun cas être supérieure au prix des tests 3M Petrifilm censés être défectueux. Le client peut jouir de droits supplémentaires et doit se renseigner dans le pays d'achat.

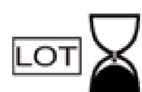
STOCKAGE ET DESTRUCTION

Stocker réfrigérées ou congelées les poches **non ouvertes** de tests Petrifilm CC au-dessous de 8ºC (46ºF). Dans les zones de forte humidité où la condensation peut poser problème, mettre les poches à température ambiante avant leur ouverture. Après ouverture, replacer les tests Petrifilm non utilisés dans leur poche.

Ne pas réfrigérer les poches ouvertes pour éviter une exposition à l'humidité. Resceller les poches et les stocker dans un endroit frais et sec un mois au maximum. L'exposition du test Petrifilm à une température et/ou une humidité relative supérieures à 25°C (77°F) et 50% RH peut altérer ses performances. Ne pas utiliser les tests Petrifilm CC présentant une décoloration brune. La date limite d'utilisation et le numéro de lot figurent sur chaque poche de test Petrifilm CC ainsi que sur chaque test Petrifilm CC.

Après usage, chaque test Petrifilm CC peut contenir des bactéries viables. Le détruire selon les normes en vigueur.

EXPLICATION DES SYMBOLES

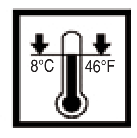


2000-10-AZ

- Le mot "LOT" dans une case et le sablier sont les symboles qui représentent le numéro du lot et la date d'expiration. Le sablier est suivi de l'année et du mois qui représentent la date d'expiration (année et mois: -10).
  La ligne complète représente le numéro du lot (2000-10 AZ).



- Attention, consulter la notice d'utilisation.



- Stocker en dessous de la température indiquée.

MODE D'EMPLOI

Préparation de l'échantillon

1. Utiliser les diluants **stériles** appropriés : tampon phosphate Butterfield[1,3] , eau peptonée[3] 0,1 %, peptone-sel [2,3] , eau peptonée tamponnée [2,3] , solution salée (0,85 à 0,90% poids /volume), bouillon de Letheen sans bisulfite, ou eau distillée. **Ne pas utiliser de tampons contenant du citrate, du bisulfite ou du thiosulfate** avec les tests Petrifilm, ils peuvent inhiber la croissance des bactéries. Si un tampon au citrate est employé, le remplacer par un tampon phosphate Butterfield chauffé entre 40 et 45ºC.

   Méthode validée AFNOR :
   Seuls des diluants cités dans les normes ISO [2,3] sont autorisés.

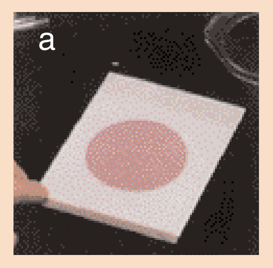
2. Mélanger ou homogénéiser l'échantillon.
3. Pour obtenir des conditions de croissance optimales : ajuster le pH de l'échantillon dilué entre 6,6 et 7,2 à l'aide de NaOH 1N pour les produits acides. Ajuster le pH des produits alcalins à l'aide de HCl 1N.

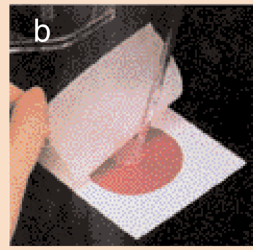
Utilisation des tests 3M™ Petrifilm™ CC

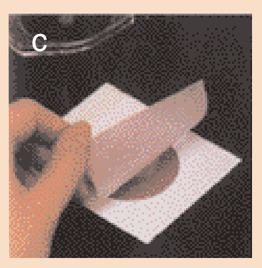
1. Placer le test Petrifilm CC sur une surface de travail plane (voir figure a).
2. Soulever le film supérieur et déposer 1 ml d'échantillon ou d'échantillon dilué au centre du film inférieur (voir figure b).
3. Recouvrir délicatement l'échantillon avec le film supérieur pour éviter de piéger des bulles d'air (voir figure c).
4. Placer le diffuseur, côté lisse vers le bas, au centre du test Petrifilm (voir figure d).
5. Répartir l'échantillon uniformément en exerçant une légère pression au centre du diffuseur en plastique. Répartir l'inoculum sur la totalité de la zone de croissance avant que le gel ne se forme. Ne pas faire glisser le diffuseur sur le film.
6. Retirer le diffuseur et laisser reposer pendant au moins une minute pour permettre la solidification du gel.

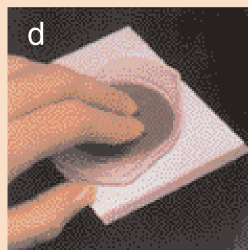
Incubation

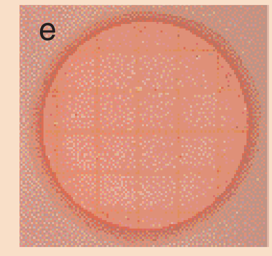
1. Incuber les tests 3M™ Petrifilm™ à l'horizontale, le film transparent vers le haut, sans empiler plus de 20 unités. L'incubateur doit éventuellement être humidifié.
2. Les conditions d'incubation ainsi que l'interprétation des tests Petrifilm CC varient selon les méthodes suivies.


a

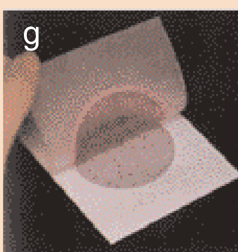

b


c


d


e


f


g

Par exemple :

AOAC® Official Methods SM (986.33 Dénombrement des coliformes dans le lait, méthode sur film sec réhydratable et 989.10 Dénombrement des coliformes et des bactéries aérobies dans les produits laitiers, méthode sur film sec réhydratable).
Incuber les tests Petrifilm CC 24 h ± 2 h à 32ºC ± 1ºC.

AOAC® Official MethodsSM (991.14 Dénombrement des coliformes et des *Escherichia coli* dans tout type d'aliments, méthode sur film sec réhydratable).
Incuber les tests Petrifilm CC 24 h ± 2 h à 35ºC ± 1ºC.

Méthode validée par l'AFNOR :

Coliformes totaux : par comparaison à la norme ISO 4832 (3M-01/2-09/89 A) et par comparaison à la norme ISO 4831 (3M-01/2-09/89 B)
Pour tout produit, sauf les coquillages crus.

- Incuber les tests Petrifilm CC 24 h ± 2 h à 30ºC ± 1ºC, 35ºC ± 1ºC ou 37ºC ± 1ºC.
- Comme il est mentionné dans les normes ISO 4831 et ISO 4832, ces températures doivent faire l'objet d'un accord entre les parties et être mentionnées dans le certificat d'analyse.

Coliformes thermotolérants : par comparaison à la norme NF V08-060, VRBL incubation à 44°C ± 1°C (3M-01/2-09/89 C)

Tout produit.
· Incuber les tests Petrifilm CC 24 h ± 2 h à 44ºC ± 1°C.

Interprétation

1. Le dénombrement à l'aide des tests Petrifilm CC peut se faire sur un compteur de colonies standard ou au moyen d'une autre source de lumière intense. Ne pas compter les colonies sur le pourtour en mousse, la sélectivité du milieu y est modifiée. Ne pas compter les bulles artefacts éventuellement présentes.
2. L'interprétation de colonies de coliformes sur le test Petrifilm CC varie selon la méthode.

   Par exemple :
   - AOAC® Official MethodsSM – les colonies de coliformes sont rouges et étroitement associées (à une distance de l'ordre du diamètre d'une colonie) à des bulles de gaz (voir figure e).

   OU
   - Par comparaison à la norme ISO 4831 (méthode NPP) méthode validée par l'AFNOR, les colonies de coliformes sont rouges et étroitement associées (à une distance de l'ordre du diamètre d'une colonie) à des bulles de gaz (voir figure e).
     Note : une forte proportion de bacilles Gram négatif ne produisant pas de gaz peut nécessiter une dilution plus poussée pour mettre en évidence les colonies de coliformes qui produisent du gaz, dans la plage de dénombrement recommandée.
   - Par comparaison aux normes ISO 4832 et NF V08-060 (méthode VRBL), méthode validée par l'AFNOR, dénombrer toutes les colonies rouges avec ou sans gaz.
3. La zone de croissance du test Petrifilm CC est de 20 cm² environ. Des estimations sont possibles sur les tests Petrifilm CC contenant plus de 150 colonies (ces estimations sont hors validation AFNOR) en comptant le nombre de colonies dans un ou plusieurs carrés représentatifs et en déterminant le nombre moyen par carré. Multiplier ce nombre moyen par 20 pour déterminer le nombre estimé par test Petrifilm CC (voir figure f).
4. Les tests Petrifilm CC incomptables ont au moins l'une des caractéristiques suivantes : grand nombre de petites colonies, grand nombre de bulles de gaz et assombrissement de la couleur du gel. Si l'une ou plusieurs de ces caractéristiques est présente, il convient de procéder à d'autres dilutions pour obtenir un dénombrement plus précis.
5. Les colonies peuvent être isolées pour effectuer une identification. Soulever le film supérieur et prélever la colonie du gel (voir figure g).
6. Après incubation, les tests Petrifilm CC peuvent être stockés congelés à une température inférieure ou égale à -15°C (5°F) durant au plus une semaine pour permettre une lecture différée.

Pour toute information complémentaire, se reporter au «Guide d'interprétation». Pour toute question sur des applications ou procédures spécifiques, veuillez prendre contact avec le représentant officiel des produits 3M microbiologie le plus proche.

Références

1. FDA. 1998. *Bacteriological Analytical Manual*, 8th ed., Appendix 3.64.
2. ISO 6887-1:1999. Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.
3. ISO 8261/FIL122 : 2001. Lait et produits laitiers - Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.



Département Microbiologie
Laboratoires 3M Santé

Boulevard de l'Oise
95029 Cergy-Pontoise
Tél : 01 30 31 85 77
Fax : 01 30 31 85 78
Internet : www.3m.com/fr/sante